METTL16 在泛癌中的综合分析：一种潜在的预后和免疫学生物标志物

黄祝谷[1] 吕紫茵[2] 李志宏[3] 黄树强[3] 谭翠钰[3] 郑锦圳[3]
[1]（广州医科大学儿科学院，广州 510000）
[2]（广州医科大学第一临床学院，广州，510000）
[3]（广州医科大学第六临床学院，广州，510000）

摘要:

［目的］ 通过生物信息学方法探讨 METTL16 在泛癌中的诊断价值及肿瘤预后评估的作用。

［方法］ 从多个相关数据库中获取各个肿瘤及正常组织中的基因数据，分析了 METTL16 在不同癌症中的表达的表达水平，其中包括癌症细胞系百科全书（CCLE）、癌症基因组图谱（TCGA）和基因型-组织表达项目（GTEx）。采用 Cox 回归分析和 Kaplan-Meier 分析来评估 METTL16 表达水平高低与肿瘤预后之间的关系。使用肿瘤免疫评估资源 (TIMER) 来评估 METTL16 与癌症中的免疫细胞浸润的相关性。同时，还分别分析了 METTL16 的表达水平与常见的免疫调节因子、DNA 甲基转移酶（DNMTs）、错配修复（MMRs）、微卫星不稳定性（MSI）和肿瘤突变负荷（TMB）之间的关系。此外，通过基因集富集分析 (GSEA) 来识别癌症中的关键通路。

［结果］ METTL16 在多种癌症中异常表达，生存分析表明其表达水平与许多癌症患者的临床预后相关。METTL16 的表达水平与结肠癌（COAD）、肾透明细胞癌（KIRC）、肝癌（LIHC） 中的的六种免疫浸润细胞（B 细胞、CD4 + T 细胞、CD8 + T 细胞、树突状细胞、巨噬细胞和中性粒细胞）的表达水平呈正相关。此外，METTL16 表达与多种癌症中的免疫检查点基因表达、MMR、DNA 甲基转移酶水平、TMB 和 MSI 显着相关。同时，GSEA 还揭示了 METTL16 参与了肿瘤和免疫相关信号通路的调控。

［结论］ METTL16 与肿瘤预后和肿瘤免疫浸润密切相关，并在多种肿瘤的发生发展中起着重要作用。METTL16 可能成为一种很有前途的各种肿瘤预后生物标志物，并为未来的肿瘤免疫研究和治疗策略提供新的思路。

关键词：METTL16；泛癌；预后；免疫浸润；肿瘤微环境；

Comprehensive analysis of METTL16 in pan-carcinoma: a potential prognostic and immunological biomarker

Huang Zhugu[1] Lv Ziyin[2] Li Zhihong[3] Huang Shuqiang[3] Tan Cuiyu[3] Zheng Jinzhen[3]
[1] (School of Pediatrics, Guangzhou Medical University, Guangzhou 510000, China)
[2] (Department of Clinical Medicine, The First Clinical School of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510000, China.)
[3] (Department of Clinical Medicine, The Sixth Clinical School of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510000, China.)

[Objective] To explore the diagnostic value and prognosis of METTL16 (METTL16) in pan-carcinoma by bioinformatics method.

[Methods] The gene data of each tumor and normal tissue were obtained from several relevant

databases, including the Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE), the Cancer Genome Atlas (TCGA) and the Genotype-Tissue Expression Project (GTEx). The expression levels of METTL16 in different cancers were analyzed.Cox regression analysis and Kaplan-Meier analysis were used to evaluate the relationship between METTL16 expression level and tumor prognosis.The Tumor Immune Evaluation Resource (TIMER) was used to assess the association of METTL16 with immune cell infiltration in cancer.Meanwhile, the relationship between the expression level of METTL16 and common immunoregulatory factors, DNA methyltransferase (DNMTs), mismatch repair (MMRs), microsatellite instability (MSI) and tumor mutation load (TMB) was also analyzed.In addition, gene set enrichment analysis (GSEA) was used to identify key pathways in cancer.

[Results] METTL16 was abnormally expressed in a variety of cancers, and survival analysis showed that its expression was associated with clinical outcomes in many cancer patients.The expression level of METTL16 was positively correlated with the expression levels of six types of immunoinfiltrating cells (B cells, CD4 + T cells, CD8 + T cells, dendritic cells, macrophages and neutrophils) in colon cancer (COAD), kidney clear cell carcinoma (KIRC) and liver cancer (LIHC).In addition, METTL16 expression was significantly associated with immune checkpoint gene expression, MMR, DNA methyltransferase levels, TMB, and MSI in multiple cancers.GSEA also revealed that METTL16 is involved in the regulation of tumor and immune-related signaling pathways.

[Conclusion] METTL16 is closely related to tumor prognosis and tumor immunoinfiltration, and plays an important role in the occurrence and development of various tumors.METTL16 may be a promising prognostic biomarker for various tumors and provide new ideas for future tumor immune research and therapeutic strategies.

KEY WORDS： METTL16; Pan-cancer analysis; Prognosis; Immune infiltration; Tumor microenvironment;

N6-甲基腺苷（N6-methyladenosine，m6A）修饰是最常见和最丰富的 RNA 修饰方式，尤其是在真核信使 RNA（mRNA）中[1]。已有研究表明 m6A 修饰在调节 RNA 加工、剪接、成核、翻译和稳定性方面起着至关重要的作用，并参与包括癌症在内的多种疾病的发病机制[1]。其中，甲基转移酶样蛋白 16(Methyltransferase-like16,METTL16)是新发现的 m6A 甲基转移酶，可催化某些编码和非编码 RNA 发生甲基化修饰[2]。METTL16 的异常表达和多种癌症的产生及预后有一定的相关性，例如肝癌[3]、胃癌[4]、乳腺癌[5]、结肠癌[6]、肺癌[7]等, 但目前尚无研究对泛癌中 METTL16 的 作用机制进行全面研究。

因此，本研究通过从 TCGA 数据库及 TIMER 等数据库获得 METTL16 表达与泛癌之间的相关数据进行可视化（Kruskal-Wallis 检验分析、Kaplan-Meier 生存分析、单因素 Cox 回归分析、GSEA 分析），分析 METTL16 在各个肿瘤中的表达，以及其与肿瘤预后、免疫微环境、基因突变和信号通路之间的关联，挖掘 METTL16 在泛癌中的潜在价值并加深对它影响机制的了解。

1 方法

1.1 数据采集

首先，根据实验要求，我们选取 TCGA 数据库（The Cancer Genome Atlas，TCGA）（https：//portal.gdc.cancer.gov/）和基因型与基因表达量关联数据库（Genotype-Tissue

Expression，GTEx）（https：//gtexportal.org/）两个数据库作为了解各个肿瘤及正常组织中的基因集的数据来源。其中，我们从 GTEx 数据集分析中观察到 METTL16 基因在 31 个组织的表达水平，从 TCGA 数据库中获取了基因在各个肿瘤样本中癌与癌旁的差异，整合 GTEx 数据库中的正常组织的数据和 TCGA 肿瘤组织的数据分析 27 种肿瘤的表达差异。然后，使用 Kruskal-Wallis 检验分析，METTL16 在不同正常组织和不同肿瘤组织中的表达水平。* 表示 $p<0.05$,** 表示 $p<0.01$，*** 表示 $p<0.001$。

1.2METTL16 在各种肿瘤中的预后分析

在 TCGA 的基因的表达谱数据的基础上，我们选取 Kaplan-Meier 生存分析、单因素 Cox 回归分析两种方法，研究 METTL16 的表达对肿瘤预后的影响以及 METTL16 在 TCGA 33 种肿瘤中的表达和生存患者之间的相关性。

1.3 METTL16 在各肿瘤中的免疫浸润分析

我们从肿瘤免疫数据库（Tumor IMmune Estimation Resource，TIMER）下载了 33 种癌症的六种免疫浸润细胞的得分数据，然后分别分析 METTL16 基因表达与这些癌症免疫细胞得分的相关性。其次，使用 R 软件包 estimate 分析了各个肿瘤样本的免疫评分和基质评分，观察在 33 个肿瘤中 *METTL16* 表达与免疫评分的相关性。

1.4 METTL16 与各肿瘤免疫检查点之间的相关性

我们从 UCSC(https://xenabrowser.net/)数据库中下载了各个肿瘤的表达数据集,分析 METTL16 基因及四十多个免疫检查点基因在各个样本中的表达数据,并计算了 METTL16 和五类免疫途径的标记基因的相关性。* 表示显著相关 $p<0.05$, ** 表示显著相关 $p<0.01$, *** 表示显著性格 $p<0.001$。

1.5 METTL16 与 MMR 基因突变水平和 DNA 甲基转移酶的相关性

我们使用 TCGA 的表达谱数据，研究 METTL16 和 5 个 MMRS 基因的突变的相关性，并构建 METTL16 表达和四个甲基转移酶的可视化图谱。当 $P<0.05$ 和 $R>0.20$ 时，认为相关性是显著的而且是正相关。

1.6 METTL16 与 TMB 和 MSI 的关系

肿瘤突变负荷（tumor mutational burden，TMB），用来反映肿瘤细胞中所含有的突变数目，是一种可定量生物标志物，研究证实 TMB 与免疫治疗预后具有相关性。微卫星 DNA 广泛存在于原核和真核生物基因组中，微卫星不稳定性(microsatellite instability,MSI)可作为评估肿瘤预后的一个指标。在这里我们分别统计了每个肿瘤样本的 TMB，分析基因表达与 TMB 的关系。除此之外，我们还分析了基因表达与 MSI 的相关性。其中我们使用了斯皮尔曼等级相关系数。

1.7METTL16 与 KEGG 和 HALLMARK 通路的关系

我们根据基因表达将样本分成高低两组，使用 GSEA 分析高表达组和低表达组的 KEGG 和 HALLMARK 通路的富集，结果如 GSEA，得出最显著的前三个通路可视化。

2 结果

2.1 METTL16 在不同肿瘤中的表达

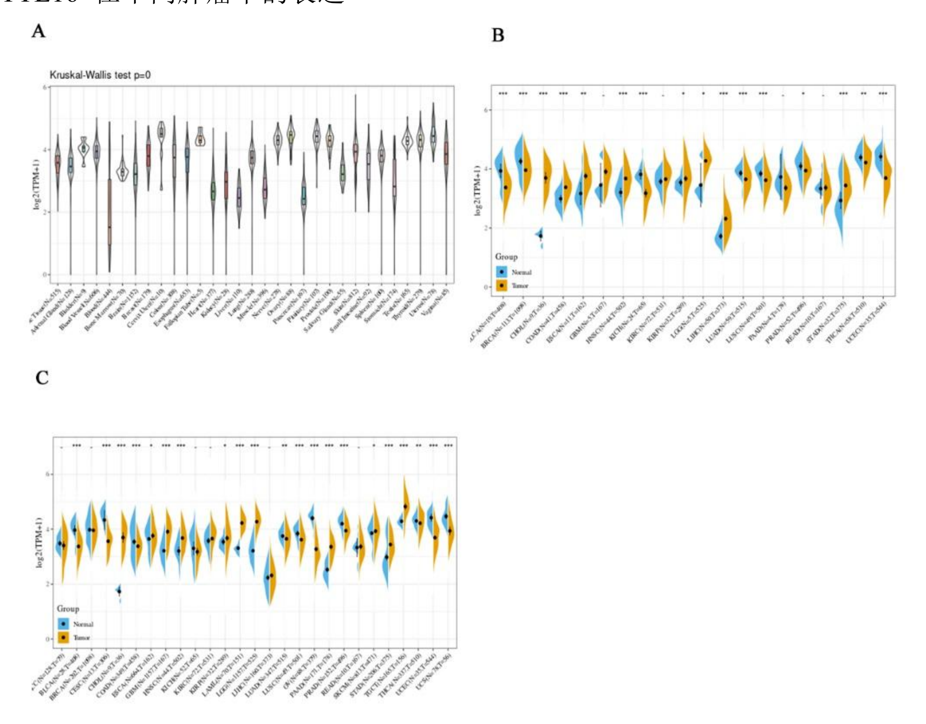


图 1 METTL16 在组织中的表达水平

Figure 1 The expression level of METTL16 in tissues

注：A 为 METTL16 在 GTEx 数据库中的表达水平。B 为 METTL16 在 TCGA 数据库中 癌组织与癌旁组织的表达水平。C 为整合 GTEx 数据库与 TCGA 数据库中的数据后，METTL16 的表达水平与正常组相比。* 表示 p<0.05,** 表示 p<0.01，*** 表示 p<0.001。

首先，我们应用 GTEx 数据库评估 31 个正常组织中的 METLL16 表达。结果表明，在所有评估的正常组织中，METLL16 在子宫颈，卵巢，垂体，子宫的表达水平最高，在血液，胰腺，肝脏的表达水平最低。(Kruskal-Wallis 检验，p = 0)（图 1A）。此外，基于 TCGA 数据库，我们发现 METLL16 在 BLCA，BRCA，KICH，LUAD，LUSC，ULEC，THCA，PRAD 的表达水平相对较高（图 1B），在 CHOL，COAD，HNSC，LIHC，STAD，ESCA，KIRP,LGG 的表达水平相对较低（图 1B）。考虑到 TCGA 中缺乏正常样本对照的肿瘤，我们将来自 GTEx 数据库的相应正常样本与 TCGA 数据库整合为图 1C，来评估不同癌症中 METTL16 表达的差异。结果表明，METLL16 在 CHOL、ESCA、GBM、HNSC、KIRP、LAML、LGG、PAAD、SKCM、STAD、TGCT 表达上调（图 1C），在 BLCA、CESC、COAD、LUAD、LUSC、OV、PRAD、THCA、UCEC、UCS 表达下调（图 1C）。

2.2 METTL16 在不同肿瘤中的预后分析

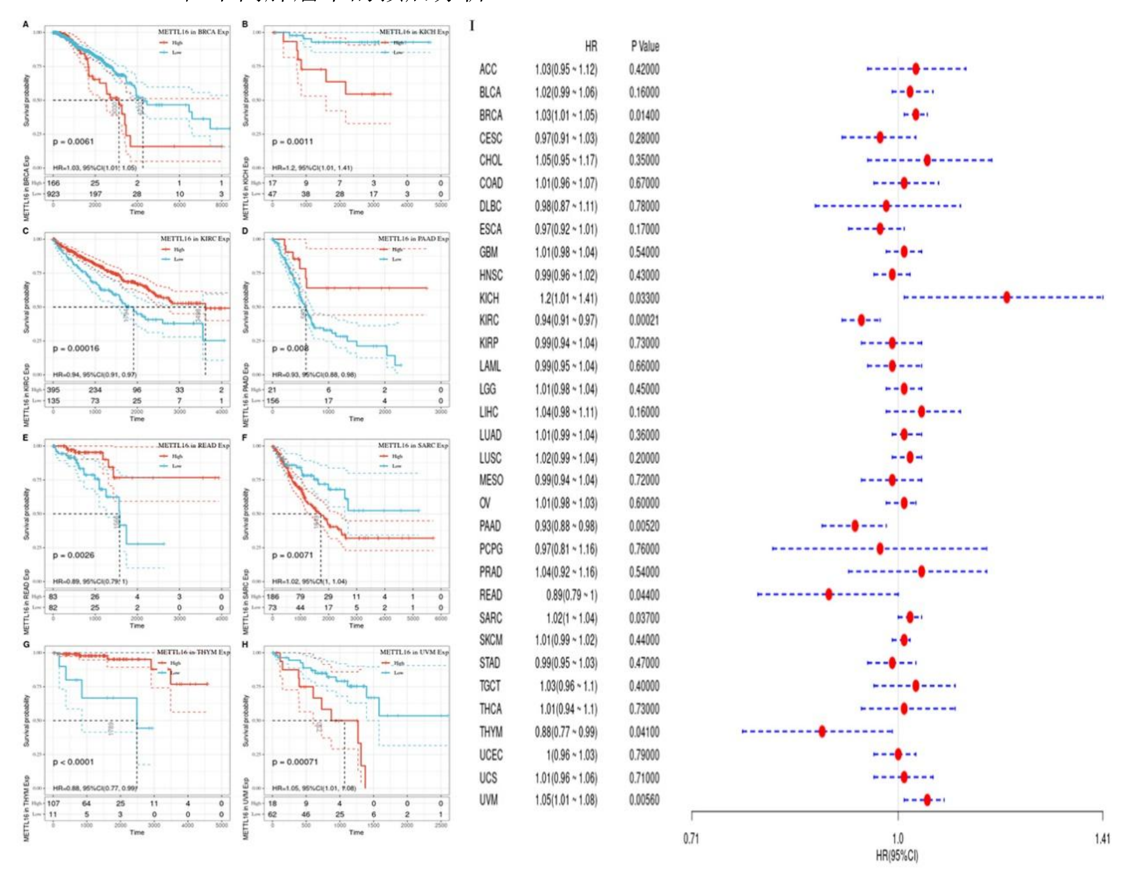


图 2 METTL16 表达与癌症患者的总体生存率的关系

Figure 2 Relationship between METTL16 expression and overall survival of cancer patients

注：

A 为 METTL16 高低水平与 BRCA OS 之间关系的 K-M 生存曲线，

B 为 METTL16 高低水平与 KICH OS 之间关系的 K-M 生存曲线，

C 为 METTL16 高低水平与 KIRC OS 之间关系的 K-M 生存曲线，

D 为 METTL16 高低水平与 PAAD OS 之间关系的 K-M 生存曲线，

E 为 METTL16 高低水平与 READ OS 之间关系的 K-M 生存曲线，

F 为 METTL16 高低水平与 SARC OS 之间关系的 K-M 生存曲线，

G 为 METTL16 高低水平与 THYM OS 之间关系的 K-M 生存曲线，

H 为 METTL16 高低水平与 UAM OS 之间关系的 K-M 生存曲线，

（BRCA:乳腺浸润癌 ;KICH:肾嫌色细胞癌 ；KIRC：肾透明细胞癌 ；PAAD：胰腺癌；READ：直肠腺癌；SARC：肉瘤；THYM：胸腺癌；UVM：葡萄膜黑色素瘤）。

METTL16 与肿瘤预后的关系分析结果显示，METTL16 在 BRCA（HR=1.03，P=0.014）、KICH（HR=1.2，P=0.03300）、KIRC（HR=0.94，P=0.00021）、PAAD（HR=0.93，P=0.00520）、READ（HR=0.89，P=0.0440）、SARC（HR=1.02，P=0.03700）、THYM（HR=0.88，P=0.04100）、UVM（HR=1.05，P=0.00560）中存在预后意义（图 2I）。K-M 分析曲线结果显示，BRCA、KICH、SARC、UVM 中 METTL16 高表达水平以及 KIRC、PAAD、READ、THYM 中 METTL16 低表达水平与不良预后有关(图 2 A-H)。

2.3 不同肿瘤中 METTL16 与肿瘤免疫浸润和肿瘤微环境之间的相关性

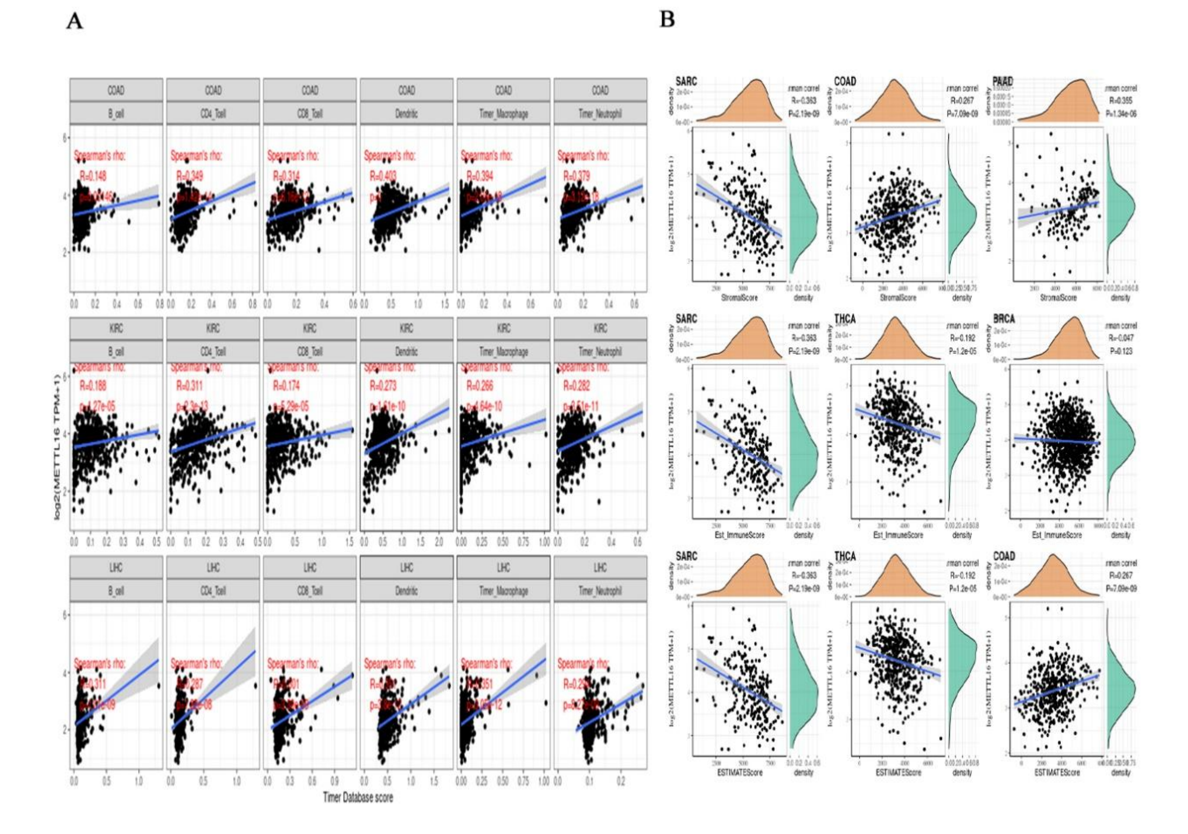


图 3 METTL16 表达与不同类型癌症中的免疫浸润水平的关系

Figure 3 Relationship between METTL16 expression and the level of immunoinvasion in different types of cancer

注：A 为 METTL16 的表达水平与 COAD、KIRC、LIHC 中免疫细胞浸润之间的相关性分析，B 为 METTL16 的表达水平与免疫评分，基质评分以及 ESTIMATE 的免疫评分的关系。

表 1 METTL16 表达与免疫评分、基质评分以及 ESTIMATE 的免疫评分关系

Table 1 The relationship between METTL16 expression and immune score，matrix score and immune score of ESTIMATE

项目		METTL16	
		r值	P值
免疫评分	SARC	0.363	<0.001
	COAD	0.267	<0.001
	PAAD	0.355	<0.001
基质评分	SARC	-0.363	<0.001
	THCA	-0.192	<0.001
	BRCA	-0.047	<0.001
ESTIMATE 免疫评分	SARC	-0.363	<0.001
	THCA	-0.192	<0.001
	COAD	0.267	<0.001

注：SARC，肉瘤；COAD，结肠癌；PAAD，胰腺；THCA，甲状腺癌；BRCA，乳腺浸润癌。

通过对 METTL16 与免疫细胞浸润以及肿瘤微环境之间的相关性进行评分，有助于预测癌症[8]的预后和治疗敏感性。首先，我们利用 TIMER 数据库来研究 METTL16 与人类 33 种癌症的六种免疫浸润细胞之间的潜在关联，结果显示，METTL16 的表达水平与 COAD、KIRC、LIHC 等肿瘤的免疫浸润水平的相关性最强。而且 METTL16 的表达水平均与 COAD、KIRC、LIHC 中的六种免疫浸润细胞即 B 细胞、CD4+ T 细胞、CD8+ T 细胞、树突状细胞、巨噬细胞和中性粒细胞的水平呈正相关（图 3A）。此外，我们整合了免疫评分、基质评分 和 ESTIMATE 免疫评分，以进一步评估 METTL16 表达与癌症免疫浸润之间的关系。结果表明，METTL16 的表达与 SARC（R=0.363,P<0.001）、COAD(R=0.267,P<0.001)、PAAD(R=0.355,P<0.001) 的免疫评分均呈正相关。METTL16 的表达与 SARC(R=-0.363,P<0.001)、THCA(R=-0.192,P<0.001)、BRCA(R=-0.047,P<0.001)的基质评分均呈负相关。METTL16 的表达与 COAD(R=0.267,P<0.001) ESTIMATE 的免疫评分呈正相关，与 SARC(R=-0.363,P<0.001) 、THCA(R=-0.192,P<0.001) 呈负相关（图 3B、表 1）。

2.5 不同肿瘤中 METTL16 的表达水平与 MMR 基因突变水平和 DNA 甲基转移酶的关系

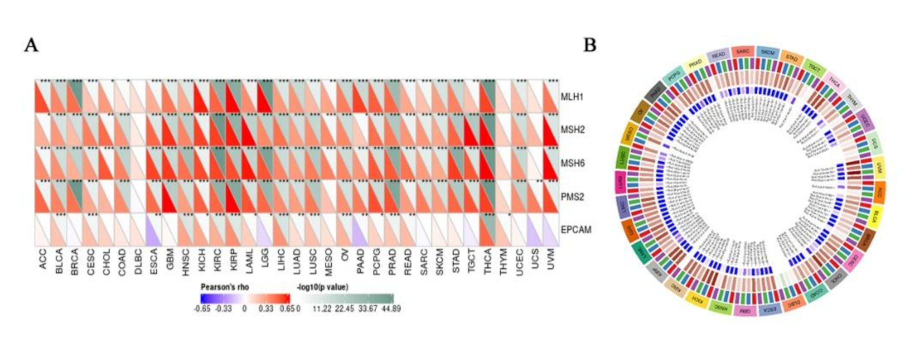


图 5 METTL16 在泛癌中的表达与 5 个 MMR 基因和 4 个 DNA 甲基转移酶的相关性

Figure 5 The correlations of METTL16 expression with five MMR genes and four DNA methyltransferases in pan-carcinomas.

注：（A）METTL16 的表达水平与癌症中五种 MMR 基因表达水平的相关性，

（B）METTL16 的表达水平与癌症中四种 DNA 甲基转移酶的相关性，

*表示相关性差异为 P<0.01，***表示相关性差异为 P<0.001。

为了确定 METTL16 在肿瘤进展中的作用，我们评估了 METTL16 表达水平与 MLH1、MSH2、MSH6、PMS2、EPCAM 五个 MMR 基因突变水平的关联，结果显示，除了 DLBC 之外，各个肿瘤中 METTL16 的表达水平与 5 个 MMR 基因突变水平显著相关，且几乎均为正相关。（图 5A）。除此之外，我们评估了 METTL16 表达水平与 DNMT1、DNMT2、DNMT3A 、 DNMT3B 四种 DNA 甲基转移酶之间的关系，结果显示，除了 DLBC 和 UCS 之外，各个肿瘤中 METTL16 的表达水平与四种 DNA 甲基转移酶的水平几乎均呈显著正相关（P <0.05,R >0.20）（图 5B）。

2.6 不同肿瘤 METTL16 表达水平与 TMB 和 MSI 的关系

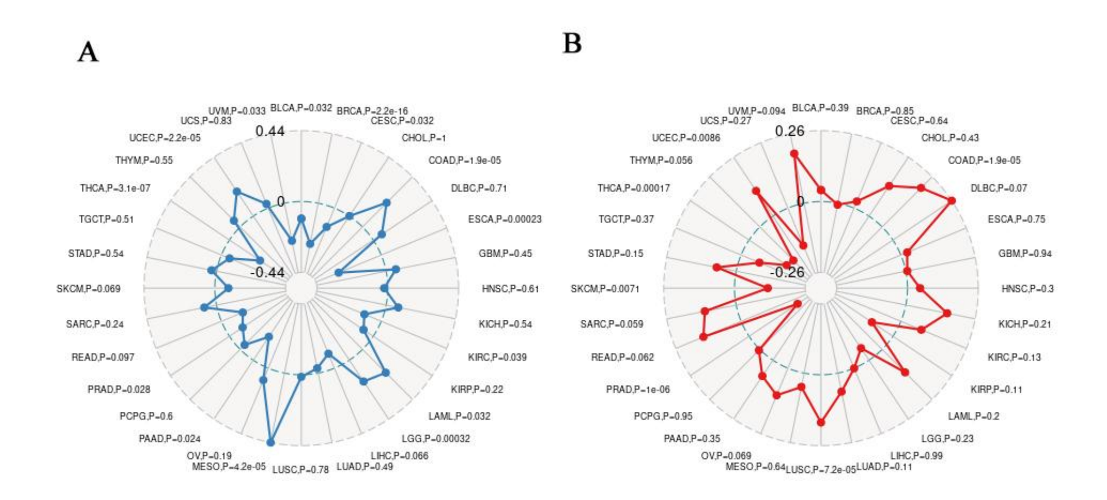


图 7 METTL16 表达与肿瘤突变负荷（TMB)、微卫星不稳定性（MSI）的关系
Fig 7 Correlation between METTL16 expression and tumor mutation burden (TMB), microsatellite instability (MSI)。

METTL16 表达与 TMB 的关系图显示，METTL16 在 COAD（P<0.0001）、LAML(P=0.032)、LGG(P=0.00032)、MESO(P<0.0001)、UCEC(P<0.0001)中的表达与 TMB 呈正相关，在 BLCA(P=0.032)、BRCA(P<0.0001)、CESC(P=0.032)、ESCA(P=0.00023)、KIRC(P=0.039)、PRAD(P=0.024)、PRAD(P=0.028)、THCA(P<0.0001)、UVM(P=0.033) 与 TMB 呈负相关（图 7A)。此外，METTL16 表达与 MSI 的关系图显示，METTL16 在 CHOL(P=0.43)、COAD(P<0.0001)、LUSC(P<0.0001)、UCEC(P=0.0086)中的表达与 MSI 呈正相关，在 PRAD(P<0.0001)、SKCM(P=0.0071)、THCA(P=0.00017 与 MSI 呈负相关（图 7B)。

2.7METTL16 在 KEGG 和 HALLMARK 通路的 GSEA 分析

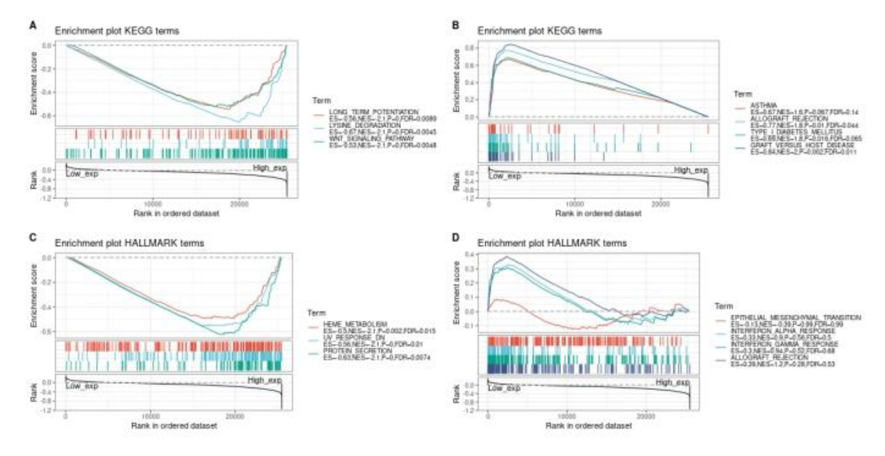


图 6 METTL16 的 KEGG 和 HALLMARK 通路富集图
Fig 6 KEGG and HALLMARK pathway enrichment of METTL16

我们通过 GSEA 研究 METTL16 的生物学作用。KEGG 分析显示 METTL16 在长时程增强(P=0)、赖氨酸退化(P=0)和 WNT 信号通路（P=0）中高表达。此外，HALLMARK 分析显示 METTL16 在血红素代谢（P=0.002)、响应紫外线辐射（P=0)和蛋白质分泌（P=0）通路中高表达（图 6）。

3 讨论

泛癌分析是指利用多个数据库分析不同肿瘤中基因的表达、预后、突变模式和功能的生物信息学分析，它可以揭示不同肿瘤之间的异同，对癌症的预防，诊断和治疗以及指导癌症相关研究具有重要意义[9]。N6-腺苷甲基化（N6 - methyladenosine, m6A）是一种高度保守的内部 RNA 修饰，可以影响影响 RNA 加工的多个方面，包括空间结构的折叠、稳定性、半衰期控制、前体 mRNA 的剪接、输出和翻译[10]。METTL16 是 m6A RNA 甲基转移酶中的一种，已有多项研究表明其与胃癌[11]、肺癌[7]、 前列腺癌[12]、卵巢癌[13]等多种癌症的发生及其预后相关。为进一步研究 METTL16 与各种癌症的关系，本研究整合了 TCGA 与 GTEx 数据库的样本从基因表达、免疫分析等角度对其进行了一系列的泛癌分析。

我们的研究显示，METTL16 对不同癌症的预后有不同影响，同时我们发现 METTL16 的表达水平与结肠癌（COAD）、肾透明细胞癌（KIRC）、肝癌（LIHC） 中的的六种免疫浸润细胞即 B 细胞、CD4+ T 细胞、CD8+ T 细胞、树突状细胞、巨噬细胞和中性粒细胞的水平呈正相关。此外，METTL16 表达也与多种癌症中的 TMB/MSI/DNMTs/MMR 基因相关。GSEA 分析的结果显示 METTL16 在长时程增强、赖氨酸退化、WNT 信号通路、血红素代谢、响应紫外线辐射和蛋白质分泌通路中高表达。

Dai YZ 等人的实验结果表明 METTL16 在 肝癌（LICH/HCC）中的表达水平上调，与我们的研究结果一致[14]。此外我们的研究还发现 METLL16 在胆管癌（CHOL）、结肠癌（COAD）、头颈癌（HNSC）、 胃癌（STAD）、食管癌（ESCA）、肾乳头状细胞癌（KIRP）、脑低级别胶质瘤（LGG）中的表达水平相对较高，而在膀胱尿路上皮癌（BLCA）、乳腺浸润癌（BRCA），肾嫌色细胞癌（KICH）、肺腺癌(LUAD)，肺鳞状细胞癌(LUSC)，子宫内膜样癌(UCEC)，甲状腺癌(THCA)，胰腺癌（PAAD）的表达水平相对较低。表明，今后 METTL16 可成为上述癌症中预后观察的指标，但仍需进一步实验研究验证。

Wang XK 等人的研究表明 METTL16 在胃癌具有促癌作用，同时 METTL16 的表达水平与胃癌的不良预后呈正相关[15]。但是我们的研究结果表明 METTL16 对胃癌的预后影响较小，可能需要更大样本量实验研究进行验证。此外，我们研究结果显示，METTL16 高表达水平与乳腺浸润癌（BRCA）、肾嫌色细胞癌（KICH）、肉瘤（SARC）、眼部黑色素瘤（UVM）不良的预后有关，而与肾嫌色细胞癌（KICH）、胰腺癌（PAAD、直肠癌（READ）、胸腺瘤（THYM）较好的预后有关。

WNT 信号通路具有高度的保守型，研究表明其对胚胎发育、细胞周期调节、炎症和癌症在内的许多过程有重要影响，当 WNT 及其下游效应器在失控时会促进肿瘤的发生、生长和转移[16]。既往研究显示，多种癌症中存在 WNT 信号通路的异常表达，例如肝癌[17, 18]、结直肠癌、皮肤癌[19]、乳腺癌[20, 21]等。

WNT 信号通路分为经典(β-catenin 依赖性)和非经典(β-catenin 非依赖性)两种，其中以前者的研究较为广泛。研究表明，经典(β-catenin 依赖性)WNT 通路的基因突变或受体激活与组织的癌变有很大的关联性，其可通过控制细胞的异常生长和凋亡的进程、诱导癌细胞转移和粘附、加速肿瘤血管的生成，促进癌细胞的自我更新等机制影响癌症的发生和预后，此外，还有研究表明经典 WNT 通路子在免疫 T 细胞的发育成熟以及癌症免疫逃逸发挥重要的作用

[14]。然而，非经典的 WNT 通路，最近研究表明，其 Wnt/Ca2+途径与造血干细胞的衰老、破骨细胞的分化有关，同时也影响着某些癌症的发展[22, 23]。KEGG 的分析显示 METTL16 在 WNT 信号通路（P=0）中高表达。Xiao-Kun Wang 等人的研究发现，METTL16 可以通过上调胃癌细胞周期蛋白 D1 的表达来促进胃癌细胞的增殖[15]。DAVID TAI 等人的研究表明，在β-连环蛋白依赖的途径中，WNT 刺激的缺失会导致β-连环蛋白的破坏，致使细胞周期蛋白 D1 表达水平上调[16]。这些研究表明 METTL16 对癌症的发生及其预后的影响可能与 WNT 通路的高表达状态有一定的关系，然而具体的机制还需要进一步的研究。

本课题还针对 METTL16 的表达水平和 TMB、MSI、MMR、DNTSR 的关系进行了相应的研究。肿瘤突变负荷（TMB）和微卫星不稳定性（MSI）被认为是影响肿瘤发生和进展的重要因素。肿瘤突变负荷（tumour mutation burden,TMB）是一项肿瘤预测指标，其与基因突变有关，包括点突变和插入缺失[24]。同时，微卫星不稳定(microsatellite instability, MSI)也和 DNA 相关，在 DNA 复制过程中，串联重复区域易发生 DNA 复制错误[25]。因错配修复(mismatch repair, MMR)蛋白可以起到修复 DNA 的复制错误的序列的作用，MMR 基因的突变或甲基化均可引起 MSI 的发生[26]。本研究结果显示，METTL16 表达水平与 MLH1、MSH2、MSH6、PMS2、EPCAM 五个 MMR 基因突变水平的关联及四种 DNA 甲基转移酶的水平均呈正相关,且具有一定统计学意义。此外，METTL16 表达与 TMB 的关系图显示，METTL16 在 COAD、UCEC 中的表达与 TMB 呈正相关，在 PRAD、THCA 与 TMB 呈负相关。此外，METTL16 表达与 MSI 的关系图显示，METTL16 在 COAD、UCEC 中的表达与 MSI 呈正相关，在 PRAD、THCA 与 MSI 呈负相关。

虽然本次研究通过生信分析确定了 METTL16 在泛癌中的潜在价值，但由于本次研究只是基于数据库的分析得出的结果，没有经过临床样本测试进行验证，故还存在一定的局限性。未来的研究可以朝此方向努力，同时也可以更加深入的发掘 METTL16 在肿瘤发生和发展过程中的具体机制，丰富 METTL16 基因的临床价值。

[1] WANG T, KONG S, TAO M, et al. The potential role of RNA N6-methyladenosine in Cancer progression [J]. Molecular cancer, 2020, 19(1): 88.

[2] 胡磊. METTL16 在肝癌发生发展中的功能和机制研究 [D]; 安徽医科大学, 2022.

[3] WEN J, LV R, MA H, et al. Zc3h13 Regulates Nuclear RNA m(6)A Methylation and Mouse Embryonic Stem Cell Self-Renewal [J]. Molecular cell, 2018, 69(6): 1028-38.e6.

[4] PATIL D P, CHEN C K, PICKERING B F, et al. m(6)A RNA methylation promotes XIST-mediated transcriptional repression [J]. Nature, 2016, 537(7620): 369-73.

[5] PING X L, SUN B F, WANG L, et al. Mammalian WTAP is a regulatory subunit of the RNA N6-methyladenosine methyltransferase [J]. Cell research, 2014, 24(2): 177-89.

[6] BOKAR J A, SHAMBAUGH M E, POLAYES D, et al. Purification and cDNA cloning of the AdoMet-binding subunit of the human mRNA (N6-adenosine)-methyltransferase [J]. RNA (New York, NY), 1997, 3(11): 1233-47.

[7] 潘红丽, 李雪冰, 陈琛, et al. m6A RNA 甲基化在非小细胞肺癌中的研究进展 [J]. 中国肺癌杂志, 2020, 23(11): 961-9.

[8] GAJEWSKI T F, SCHREIBER H, FU Y X. Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment [J]. Nature immunology, 2013, 14(10): 1014-22.

[9] ARAN D, SIROTA M, BUTTE A J. Corrigendum: Systematic pan-cancer analysis of tumour purity [J]. Nature communications, 2016, 7(10707.

[10] OERUM S, MEYNIER V, CATALA M, et al. A comprehensive review of m6A/m6Am RNA methyltransferase structures [J]. Nucleic acids research, 2021, 49(13): 7239-55.
[11] 王婧, 王文安, 张安, et al. 甲基转移酶样蛋白家族的分子作用机制及在胃癌中的研究进展 [J]. 世界华人消化杂志, 2020, 28(11): 428-34.
[12] 张磊, 华立新, 成功. 甲基转移酶蛋白16对前列腺癌细胞株22RV1细胞迁移功能的影响 [J]. 中华实验外科杂志, 2020, 37(2): 290-2.
[13] TOUNA A B, 董莹, 杨志新, et al. m6A修饰酶METTL16在卵巢中的表达及其作用机理挖掘 [J]. 云南医药, 2022, 43(2): 13-7.
[14] DAI Y Z, LIU Y D, LI J, et al. METTL16 promotes hepatocellular carcinoma progression through downregulating RAB11B-AS1 in an m(6)A-dependent manner [J]. Cellular & molecular biology letters, 2022, 27(1): 41.
[15] WANG X K, ZHANG Y W, WANG C M, et al. METTL16 promotes cell proliferation by up-regulating cyclin D1 expression in gastric cancer [J]. Journal of cellular and molecular medicine, 2021, 25(14): 6602-17.
[16] TAI D, WELLS K, ARCAROLI J, et al. Targeting the WNT Signaling Pathway in Cancer Therapeutics [J]. The oncologist, 2015, 20(10): 1189-98.
[17] HE S, TANG S. WNT/β-catenin signaling in the development of liver cancers [J]. Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie, 2020, 132(110851.
[18] WANG R, SUN Q, WANG P, et al. Notch and Wnt/β-catenin signaling pathway play important roles in activating liver cancer stem cells [J]. Oncotarget, 2016, 7(5): 5754-68.
[19] KIM S, JEONG S. Mutation Hotspots in the β-Catenin Gene: Lessons from the Human Cancer Genome Databases [J]. Molecules and cells, 2019, 42(1): 8-16.
[20] XU J, PROSPERI J R, CHOUDHURY N, et al. β-Catenin is required for the tumorigenic behavior of triple-negative breast cancer cells [J]. PloS one, 2015, 10(2): e0117097.
[21] KHRAMTSOV A I, KHRAMTSOVA G F, TRETIAKOVA M, et al. Wnt/beta-catenin pathway activation is enriched in basal-like breast cancers and predicts poor outcome [J]. The American journal of pathology, 2010, 176(6): 2911-20.
[22] UNDI R B, GUTTI U, SAHU I, et al. Wnt Signaling: Role in Regulation of Haematopoiesis [J]. Indian journal of hematology & blood transfusion : an official journal of Indian Society of Hematology and Blood Transfusion, 2016, 32(2): 123-34.
[23] BOLANDER J, CHAI Y C, GERIS L, et al. Early BMP, Wnt and Ca(2+)/PKC pathway activation predicts the bone forming capacity of periosteal cells in combination with calcium phosphates [J]. Biomaterials, 2016, 86(106-18.
[24] 孙楠, 黄传峰, 张文新, et al. 肿瘤突变负荷检测一致性评价 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(4): 514-7.
[25] CAO D, XU H, XU X, et al. High tumor mutation burden predicts better efficacy of immunotherapy: a pooled analysis of 103078 cancer patients [J]. Oncoimmunology, 2019, 8(9): e1629258.
[26] 蓝洋, 刘锋, 葛佳, et al. 结直肠癌中MMR蛋白表达与MSI的一致性分析 [J]. 临床与实验病理学杂志, 2022, 38(9): 1120-2.

（通讯作者：黄祝谷　E-mail:3264614540@qq.com）